

# КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АУТОСЫВОРОТКИ, АКТИВИРОВАННОЙ ЗИМОЗАНОМ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА

*Волкович Т.К., Самсонова И.В. Морхат В.И.  
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет»*

**Введение.** Бактериальный кератит является тяжелым воспалительным заболеванием роговицы, имеющий высокую частоту осложнений. десцеметоцеле -- 2,4%, перфорация -- 12,8%, абсцесс роговицы -- 4,9%, эндофтальмит -- 3,1%, а в 8%-9% случаев наблюдается анатомическая гибель глаза [2, 3]

Важное значение для анатомического и функционального исхода заболевания имеет рациональный выбор лекарственных средств в соответствии с выявленным возбудителем [2, 3] Неотъемлемой частью лечения бактериального кератита является использование репарантов и протекторов роговицы -- препаратов содержащих декспантенол и солкосерил [3] Для защиты регенерирующего эпителия и улучшения эпителизации предложено применение мягких контактных линз, однако они оказывают лишь временный терапевтический эффект [2] Помимо терапевтических подходов активации эпителизации роговицы все чаще прибегают к хирургическому лечению, в частности к лечебной кератопластике с применением амниотической мембраны. Однако подобный подход в лечении наиболее целесообразен в случаях истончения роговицы на S толщины стромы роговицы и более. формирования десцеметоцеле и перфорации. Данные обстоятельства обуславливают поиск новых терапевтических подходов в лечении бактериального кератита

Известен препарат Зимозан (Sigma), являющийся сложным полимером полисахаридной природы, выделенным из оболочки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Было установлено, что Зимозан запускает альтернативный путь активации системы комплемента [1] Применение аутологичной сыворотки, активированной Зимозаном способствует усилению фагоцитоза за счет увеличения числа, размеров макрофагов и увеличению интритмакрофагальной бактерицидной активности, а также увеличению цитотоксичности макрофагов, ингибированию миграции макрофагов, пролиферации, активации N- и T-киллеров, T-хелперов, увеличению числа антителообразующих клеток [1]. Имеется ряд сообщений об успешном применении аутосыворотки, активированной Зимозаном в лечении острой воспалительной патологии брюшной полости, туберкулеза легких [1] Однако в офтальмологической практике она до настоящего времени не использовалась. Представляется актуальным ее применение в комплексном лечении бактериального кератита

**Цель.** Оценить эффективность аутосыворотки, активированной Зимозаном в комплексном лечении бактериального кератита в эксперименте

**Материалы и методы.** Для оценки эффективности аутосыворотки, активированной Зимозаном в лечении бактериального кератита нами был выполнен эксперимент на 95 кроликах-самцах (190 глаз), массой 3-3,5 кг.

По способу проводимого лечения животные были разделены на следующие группы: группа животных 1-ых суток после повреждения и инфицирования роговицы (n=5); I группа -- без лечения (n=20); II группа --

антибактериальное лечение (n=20); III группа – лечение аутосывороткой, активированной Зимозаном (n=20), IV – комбинированное лечение (антибактериальное и аутосыворотка, активированная Зимозаном) (n=20) Контролем служили показатели 10 здоровых животных.

Под внутривенным нембуталовым наркозом (30 мг/кг массы тела животного) и местной анестезией (инстилляцией в конъюнктивальную полость 2% Sol. Lidocaini) в оптической зоне выполняли послойную трепанацию роговицы трепаном диаметром 5 мм до 1/3 толщины стромы. Далее роговицу инфицировали возбудителем путем инстилляции в конъюнктивальную полость бактериальной суспензии лабораторного штамма *Staphylococcus aureus* (№ 6538-р).

Для определения клеточного состава и морфофункционального состояния эпителия роговицы на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки после повреждения и инфицирования роговицы выполняли импрессионную цитологию. Световую микроскопию клеточных образцов выполняли на микроскопе Leica при увеличении 4100, 4200, 4400, 41000. Животных группы 1-ых суток после повреждения и инфицирования роговицы выводили из эксперимента путем введения летальных доз нембутала для забора глазных яблок и последующей оценки вовлечения в воспалительный процесс роговицы, радужки и цилиарного тела. Животных I, II, III и IV групп на 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки наблюдения также выводили из эксперимента (летальная доза нембутала), забирали глазные яблоки для последующего гистологического исследования. Гистологические препараты окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван Гизону.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные нами исследования показали, что уже через 24 часа после повреждения и инфицирования роговицы развивался бактериальный кератит с вовлечением в воспалительный процесс конъюнктивы, эпителия и стромы роговицы, радужки и цилиарного тела.

Анализ клеточных образцов, полученных методом импрессионной цитологии на 1-е сутки наблюдения выявил выраженные некротические и некробиотические изменения в роговице. Так язвенно-воспалительную зону формировало большое количество детрита, по ее краю определялась выраженная нейтрофильная инфильтрация, преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов, единичные макрофаги. В перифокальной и параллельной зонах наблюдались выраженные некротические и некробиотические изменения с явлениями кариорексиса, карио- и штолизиса. В параллельной области определялись единичные фиброциты и фибробласты.

Изменения в поверхностных слоях роговицы выявляемые при микроскопии гистологических препаратов соответствовали цитологическим изменениям. Так в оптической зоне роговицы эпителий отсутствовал, в прилегающей зоне был истончен с дегенеративными изменениями. Основное вещество роговицы (строма) выглядело разволокненным за счет отека, определялась умеренно выраженная преимущественно нейтрофильно-клеточная воспалительная инфильтрация, более выраженная в лимбальной зоне. Задняя пограничная пластинка была несколько утолщена на всем протяжении, эпителий частично десквамирован.

На последующих сроках наблюдения (3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки) клиническая и цитологическая картина отличалась в исследуемых группах. Так в I группе к 3-им суткам наблюдалось дальнейшее нарастание воспалительного процесса с увеличением отека роговицы, конъюнктивы, радужки, обильным

количеством некротических масс. При микроскопии клеточных образцов и гистологических срезов были выявлены выраженные некротические и некробиотические изменения в эпителии роговицы, наблюдалось нарастание полиморфноклеточной воспалительной инфильтрации.

Напротив, в III и IV группах экспериментальных животных на 3-и сутки наблюдалось уменьшение воспалительной реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и радужки, также у 18,75% и 65% соответственно определялись признаки эпителизации по его краям. Тогда как у животных II группы клиническая картина, а так же цитологическая и гистологическая, в целом соответствовала I-ым суткам наблюдения. Так незначительно уменьшалось количество детрита и нейтрофильной инфильтрации в язвенно-воспалительной зоне. Клинически видимая эпителизация определялась к 5-6 суткам исследования ( $\sigma=5,6\pm0,73$ ,  $p<0,0001$ ).

При микроскопии клеточных образцов III и IV исследуемых групп наблюдалось значительное уменьшение количества тканевого детрита и нейтрофильной инфильтрации, увеличение количества макрофагов в язвенно-воспалительной зоне, фибробластов и фиброцитов в перифокальной и паралимбальной зонах. Такая же динамика клеточного состава наблюдалась и при гистологическом исследовании.

Последующие сроки наблюдения (7-е, 14-е и 30-е сутки) характеризовались пролиферативными изменениями в роговице во всех исследуемых группах. Так у экспериментальных животных I группы на 7-е сутки наблюдалось очищение язвенного дефекта от некротических масс, краевая эпителизация и выраженная поверхностная неоваскуляризация 4-5 мм по всей окружности лимба. При гистологическом исследовании срезов 7-ых, 14-ых и 30-ых суток исследования было выявлено, что эпителизация роговицы сопровождалась формированием акантогических тяжей, постепенным угасанием нейтрофильной инфильтрации в основном веществе, ростом глубоких новообразованных сосудов по направлению к воспалительному очагу, явлениями склероза и периваскулярного фиброза сосудов радужки и цилиарного тела. Анализ цитологических образцов выявил рост количества фиброцитов и фибробластов во всех исследуемых зонах по направлению к лимбу. Помимо этого на 30-е сутки наблюдения в паралимбальной зоне выявлялись эпителиальные клетки конъюнктивы с уменьшением их количества в направлении язвенно-воспалительной зоны, что свидетельствовало о конъюнктивализации роговицы и клинически проявлялось формированием васкуляризованного бельма.

Заживление роговицы экспериментальных животных II группы сопровождалось формированием плотного стромального аваскулярного помутнения с полной эпителизацией роговицы к 17 суткам ( $\sigma=17\pm0,7$ ,  $p<0,0001$ ). Однако при анализе гистологических срезов на 7-е и 14-е сутки были выявлены поверхностно расположенные новообразованные сосуды.

В III и IV исследуемых группах наблюдалось завершение эпителизации роговицы к 14-15 ( $\sigma=14,75\pm0,46$ ,  $p<0,0001$ ) и 13 суткам ( $\sigma=13,3\pm0,48$ ,  $p<0,0001$ ) соответственно. В отличие от II группы помутнение роговицы было менее плотным (особенно у экспериментальных животных IV группы). Кроме того, при гистологическом исследовании новообразованный эпителиальный пласт выглядел многослойным с выраженной митотической активностью, тогда как в I и II

группах он был истончен по направлению к оптической зоне роговицы с единичными митотически активными эпителиальными клетками.

В исходе воспалительного процесса формировалось помутнение роговицы, отличающееся в зависимости от проводимого лечения. Так результатом течения бактериального кератита в группе экспериментальных животных, не получающих никакого лечения (I группа), стало формирование васкуляризованного бельма. Плотное стромальное помутнение роговицы развилось у животных, получающих антибактериальное лечение (II группа), тогда как в случаях применения одиночно (III группа) или совместно с антибактериальным препаратом (IV группа) аутоыворотки, активированной Зимозаном образовывалось облаковидное помутнение.

#### **Выводы.**

1. Применение аутоыворотки, активированной Зимозаном способствует очищению язвенно-воспалительной зоны за счет усиления фагоцитоза в результате увеличения числа и размеров макрофагов, увеличения их внутримакрофагальной бактерицидной активности.

2. Применение аутоыворотки, активированной Зимозаном способствует активации пролиферативных процессов, за счет увеличения количества фибробластов и клеток, находящихся в состоянии митоза.

3. Применение аутоыворотки, активированной Зимозаном в комплексном лечении бактериального кератита позволило сократить сроки эпителизации роговицы на 3,7 суток в сравнении с группой животных, получающих антибактериальное лечение и на 1,45 суток в сравнении с группой животных, получающих только аутоыворотку, активированную Зимозаном.

Литература:

1. Иммунологический механизм действия полисахаридов дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* / Г.К. Закенфельд. - Рига 1990. - 152 с.

2. Майчук, Ю.Ф. Левофлоксацин (Таваник) в лечении язвенных поражений роговицы / Антибиотики и химиотерапия. - 2003. - № 48(6). - С. 16-9.

3. Шаимова, В.А. Клинико-этиологические особенности различных типов течения гнойной язвы роговицы / В.А. Шаимова // Вестник офтальмологии. - 2002. - Т.118, № 1. - С. 39-41